

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ana Ivanković

**ODREĐIVANJE ELEKTROKINETIČKOG POTENCIJALA OTOPINE 4-
HIDROKSIBENZOJEVE KISELINE, OTOPINE β -GLUKANA I MODELA 4-
HIDROKSIBENZOJEVE KISELINE I β -GLUKANA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Fizikalna kemija

Tema rada je prihvaćena na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 27. lipnja 2019.

Mentor: dr. sc. *Ivana Tomac*, znan. sur.

Komentor: prof. dr. sc. *Lidija Jakobek Barron*

Određivanje elektrokinetičkog potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline, otopine beta-glukana i modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i beta-glukana

Ana Ivanković, 0113136172

Sažetak: Elektrokinetički potencijal je fizikalno svojstvo izraženo na površini makromolekule. Površina makromolekule može biti električki nabijena uslijed adsorpcije nekog iona iz otopine. Poznavanje elektrokinetičkog potencijala može omogućiti predviđanje dugoročnog najstabilnijeg ponašanja neke makromolekule. Stabilnost makromolekule ovisi o elektrokinetičkom potencijalu i naboju na njezinoj površini. Stoga je zadatak ovog diplomskog rada odrediti zeta-potencijal otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline, otopine beta-glukana i modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i beta-glukana kroz različiti koncentracijski raspon, a s ciljem određivanja najstabilnijeg ponašanja modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i beta-glukana pri različitim pH vrijednostima.

Ključne riječi: β -glukan, 4-hidroksibenzojeva kiselina, elektrokinetički potencijal, apsorpcijski spektar

Rad sadrži: 36 stranica
26 slika
5 tablica
28 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---|---------------|
| 1. doc. dr. sc. <i>Valentina Bušić</i> | predsjednik |
| 2. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | član-komentor |
| 4. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 27. rujan 2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Physical Chemistry

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no.9 held on June 27, 2019.

Mentor: *Ivana Tomac, PhD*

Co-Mentor: *Lidija Jakobek Barron, PhD, prof.*

Determination of the Electrokinetic Potential of the 4-hydroxybenzoic Acid, Beta-Glucan Solution and the 4-hydroxybenzoic Acid and Beta-Glucan Model

Ana Ivanković, 0113136172

Summary: Electrokinetic potential is a physical property expressed on the surface of a macromolecule. The surface of the macromolecule may be electrically charged due to the adsorption of ions from the solution. Knowledge of the electrokinetic potential could predict the long-term stable behaviour of a macromolecule. The stability of a macromolecule depends on the electrokinetic potential and the charge on its surface. Therefore, the aim of this work was the determination of the zeta potential of 4-hydroxybenzoic acid solution, beta-glucan solution and 4-hydroxybenzoic acid and beta-glucan model through different concentration ranges, in order to determine the most stable behaviour of the 4-hydroxybenzoic acid and beta-glucan model at different pH values.

Keywords: β -glucan, rutin, electrokinetic potential, adsorption spectra

Thesis contains: 36 pages
26 figures
5 tables
28 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|---------------|
| 1. <i>Valentina Bušić, PhD, assistant prof.</i> | chair person |
| 2. <i>Ivana Tomac, PhD</i> | supervisor |
| 3. <i>Lidija Jakobek Barron, PhD, prof.</i> | co-supervisor |
| 4. <i>Ivica Strelec, PhD, prof.</i> | stand-in |

Defense date: September 27, 2019

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

**Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom
IP-2016-06-6777.**

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Polifenoli.....	4
2.1.1. 4-hidroksibenzojeva kiselina	5
2.2. Prehrambena vlakna	6
2.2.1. Beta glukana.....	6
2.3. Interakcije između polifenola i beta glukana	7
2.4. Elektrokinetički potencijal	8
2.5. Spektroskopija	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Zadatak rada.....	14
3.2. Materijali i metode.....	14
3.2.1. Kemikalije	14
3.2.2. Priprema otopine	14
3.2.3. UV-Vis spektar	14
3.2.4. Opis mjerenja ζ potencijala	15
4. REZULTATI	16
4.1. UV-Vis spektar modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana.....	17
4.2. Zeta potencijal otopine β -glukana, otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline i modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana	18
4.2.1. Zeta potencijal otopine β -glukana	18
4.2.2. Zeta potencijal otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline.....	19
4.2.3. Zeta potencijal modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana	22
4.2.4. Zeta potencijal modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana kroz različito vrijeme	25
5. RASPRAVA	27
6. ZAKLJUČAK.....	31
7. LITERATURA.....	33

Popis oznaka, kratica i simbola

PHBA	4-hidroksibenzojeva kiselina (eng. <i>4-hydroxybenzoic acid</i>)
ζ potencijal	elektrokinetički (zeta) potencijal (eng. <i>elektrokinetic (zeta) potential</i>)
γ	masena koncentracija (eng. <i>mass concentration</i>)

1. UVOD

Polifenoli se nalaze u biljkama kao sekundarni metaboliti. Bitni su sastojci ljudske prehrane jer imaju mnogobrojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, kao što je antioksidacijsko i antikancerogeno djelovanje. Fenolne kiseline, koje pripadaju u grupu polifenola, dijele se na hidroksibenzojeve kiseline i hidroksicimetne kiseline. 4-hidroksibenzojeva kiselina nalazi se u grupi hidroksibenzojevih kiselina i poznata je kao osnova za pripravu njenih estera, parabena i slično.

Prehrambena vlakna su ugljikohidratni polimeri, koja se na osnovu topljivosti dijele na topljiva i netopljiva prehrambena vlakna. β -glukan pripada u skupinu topljivih prehrambenih vlakana. Predstavlja polisaharid koji se sastoji od jedinica glukoze međusobno povezane glikozidnim vezama. β -glukan se može pronaći u zobi, ječmu, gljivama i kvascima. Polifenoli i prehrambena vlakna međusobno stvaraju veze, odnosno dolazi do vezanja polifenola na prehrambena vlakna.

Spektroskopske metode su tehnike za kvalitativne i kvantitativne analize hrane, koriste se zbog jednostavnosti, brzine i preciznosti. Spektrofotometrija je tehnika koja koristi vidljivu i ultraljubičastu svjetlost za određivanje koncentracija ili identifikaciju spoja. UV-Vis spektri prikazuju kako se apsorbancija mijenja s valnom duljinom u rasponu od 100 do 800 nm.

Elektrokinetički potencijal ili zeta potencijal definiran je kao fizikalno svojstvo izraženo na površini makromolekule odnosno kao potencijal na plohi smicanja. Čimbenici koji utječu na zeta potencijal su pH vrijednost, provodljivost, koncentracija i temperatura.

Zadatak ovog diplomskog rada je bio odrediti zeta-potencijal otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline, otopine beta-glukana i modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i beta-glukana kroz različiti koncentracijski raspon, a s ciljem određivanja najstabilnijeg ponašanja modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i beta-glukana pri različitim pH vrijednostima.

2. TEORIJSKI DIO

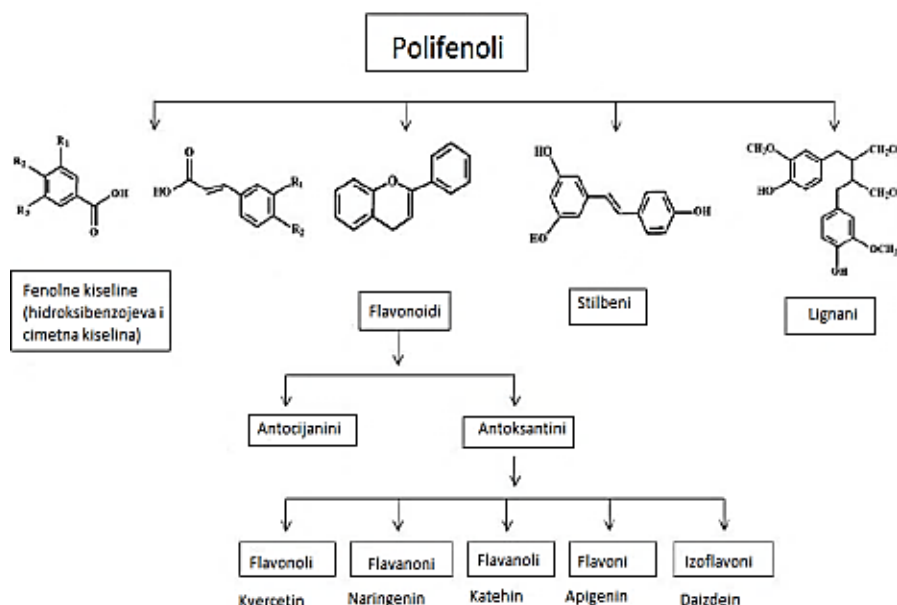
2.1. Polifenoli

Fenolni spojevi su prisutni u većini biljnih tkiva kao sekundarni metaboliti, odnosno nisu bitni za rast, razvoj i razmnožavanje, ali mogu imati ulogu antioksidansa u interakcijama biljke i njenog biološkog okoliša. Fenoli su važni sastojci ljudske prehrane zbog potencijalnog antioksidacijskog djelovanja, njihove sposobnosti da umanjuju oksidativno oštećenje uzrokovano stresom uslijed kroničnih bolesti i njihovih potencijalno važnih svojstava kao što su antiupalna, antitumorska djelovanja (Khadem i sur., 2010).

Struktura fenola sastoji se od aromatskog prstena koji sadrži jedan (fenol) ili više hidroksilnih (polifenolnih) ostataka. Razlikuje se nekoliko skupina prema broju fenolnih prstenova i strukturnim elementima koji se pridružuju tim prstenima, od kojih su dvije glavne skupine polifenola nazvane flavonoidi ili ne-flavonoidni polifenoli (Khadem i sur., 2010).

Flavonoidna skupina uključuje flavanone, flavone, dihidroflavone, flavonole, flavan-3-ole, izoflavone, antocijanidine, proantocijanidine i halkone. Ne-flavonoidni polifenoli uključuju jednostavne fenole, benzojevu kiselinu, hidrolizirajuće tanine, acetofenone, feniloctene kiseline, cimente kiseline, lignane, kumarine, benzofenone, ksantone, stilbene (Khadem i sur., 2010). Podjela polifenola vidljiva je na **Slici 1**.

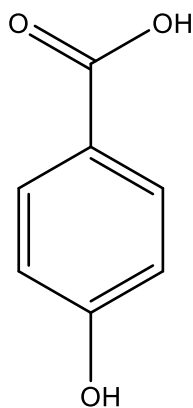
Fenolne kiseline imaju karboksilnu skupinu koja je pridružena na benzenski prsten. Postoje dvije skupine fenolnih kiselina na osnovu njihove strukture, derivati benzojeve kiseline, odnosno hidroksibenzojeve kiseline i derivati cimetne kiseline, odnosno hidroksicimetne kiseline (Khadem i sur., 2010).



Slika 1 Podjela polifenola na osnovu njihovih kemijskih struktura (Manach i sur., 2004)

2.1.1. 4-hidroksibenzojeva kiselina

4-hidroksibenzojeva kiselina, poznata i kao *p*-hidroksibenzojeva kiselina (PHBA) je monohidroksibenzojeva kiselina, odnosno fenolni derivat benzojeve kiseline. Ona je bijela kristalna tvar koja je slabo topljiva u kloroformu, ali više topljiva u polarnim organskim otapalima poput alkohola i acetona. Kemijska struktura kiseline prikazana je na **Slici 2**. PHBA prvenstveno je poznata kao osnova za pripremu njenih estera, poznatih kao paraben, koji se koriste kao konzervansi u kozmetici i nekim oftamološkim otopinama (Web 1). PHBA se nalazi u prirodnom obliku, ali se proizvodi i sintetski. Može se proizvesti reakcijom kalijevog fenoksida i ugljičnog dioksida ili reakcijom kalijevog salicilata i kalijevog karbonata uz prisutstvo topline (Web 2).



Slika 2 Kemijska struktura 4-hidroksibenzojeve kiseline

Za PHBA se navodi da ima antibakterijsko djelovanje (protiv Gram + i Gram - bakterija), antimutageno i estrogeno djelovanje, također ima široku primjenu kao konzervans u lijekovima, kozmetici, hrani i pićima (Manuja i sur., 2013). PHBA je privukla pažnju kao prekursor u bioprodukciji kemijskog fenola, jer upotreba biofenola ima veliki potencijal za smanjenje emisije CO₂ (Kitade i sur., 2018).

2.2. Prehrambena vlakna

Prehrambena vlakna su ugljikohidratni polimeri otporni na probavu i adsorpciju u tankom crijevu, ali se mogu djelomično ili potpuno fermentirati u debelom crijevu. Ugljikohidratni polimeri mogu biti:

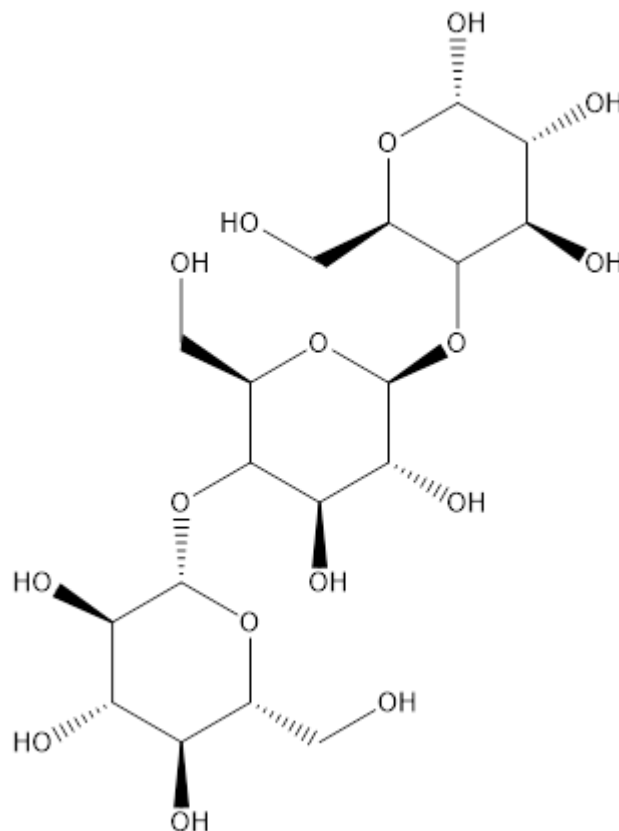
- jestivi, koji se prirodno pojavljuju u hrani,
- koji se iz hrane mogu dobiti fizikalnim, enzimskim ili kemijskim sredstvima i
- sintetički ugljikohidratni polimeri s povoljnim fiziološkim učincima.

Na osnovi topljivosti, prehrambena vlakna dijele se na topljive i netopljive. Topljiva vlakna uključuju pektine, β -glukane, oligosaharide i slično. U skupinu netopljivih vlakana pripadaju celuloza, hemiceluloza, hitin i rezistentni škrob (Jakobek i sur., 2019).

2.2.1. Beta glukan

β -glukan je polisaharid (lanac od jedinica glukoze) koji se nalazi u zobu, ječmu, gljivama i kvascima. Zatim, može se nalaziti u manjoj količini u raži i pšenici (Mason, 2011). β -glukan sastoji se od jedinica glukoze povezanih β -(1-4) i β -(1-3) glikozidnim vezama. Pojedinačne β -

(1-3) veze uglavnom su razdvojene sa dvije ili tri β -(1-4) veze, ali omjer između β -(1-4) i β -(1-3) veza razlikuje se ovisno o vrsti žitarica (Mittmeyer, 2017). Struktura β -glukana prikazna je na **Slici 3**.



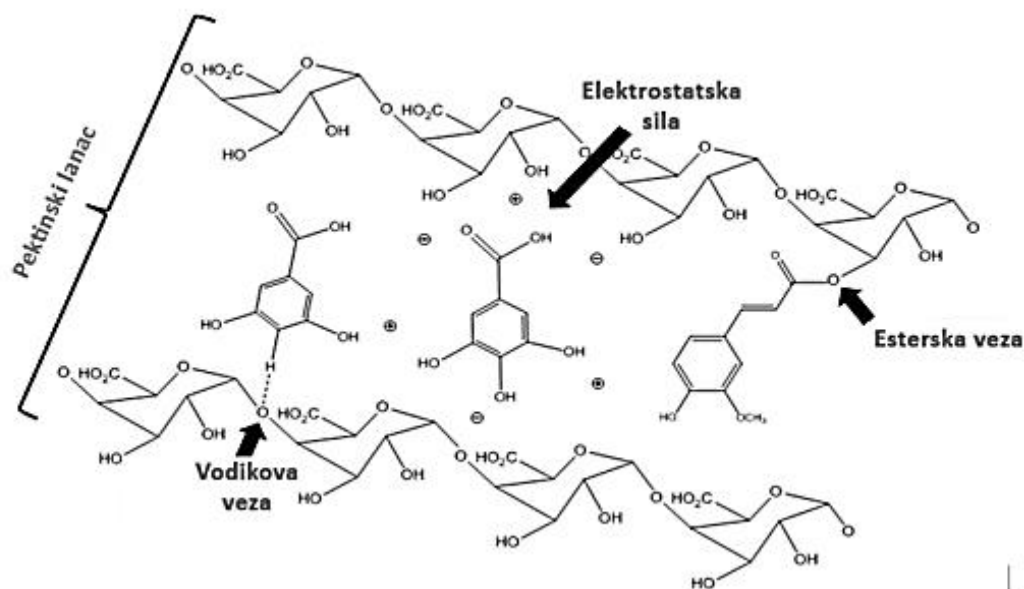
Slika 3 Kemijska struktura β -glukana

β -glukan je aktivan u raznim vrstama živih organizama i potiče imunitet, zacjeljivanje rana, regulira metabolički dijabetes, smanjuje psihofizički stres, ublažuje sindrom kroničnog umora i inhibira razvoj malignih oboljena. Do sada su provedena klinička ispitivanja β -glukana na imunološki sustav i dokazano je ne samo da utječu na imunološki sustav, već da smanjuju i razinu kolesterola (Jakobek i sur., 2019).

2.3. Interakcije između polifenola i beta glukana

Prehrambena vlakna i polifenoli međusobno stvaraju veze, pri čemu se polifenoli vežu na površinu prehrambenih vlakana, a sam proces ovisi o uvjetima okoliša poput pH vrijednosti, temperature i ionske jakosti (Jakobek i sur., 2019). Fenolni spojevi imaju u svojoj strukturi hidrofobni aromatski psten i hidrofilne hidroksilne grupe koje imaju sposobnost vezanja na

polisaharide i proteine. Mogu biti povezani vezanjem vodika između hidroksilne skupine fenolnih spojeva i kisikovih atoma glikozidnih veza polisaharida, hidrofobnim interakcijama i kovalentnim vezama kao što su esterske veze između fenolnih kiselina i polisaharida (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Navedene veze prikazane su na **Slici 4**.



Slika 4 Veze između prehrambenih vlakana i fenolnih kiselina (Quirós-Sauceda i sur., 2014)

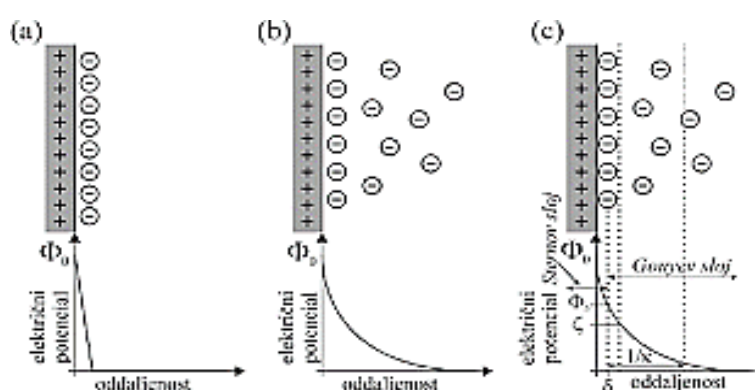
Do danas u literaturi nema puno podataka o interakcijama između polifenola i polisaharida (β -glukan) pokazali su da polifenoli ulaze u interakcije s β -glukanom procesom adsorpcije polifenola na β -glukan (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Fenolni spojevi pojavljuju se kao važni sastojci netopljivih prehrambenih vlakana, što se odvija zbog njihove sposobnosti kao što su kemijske interakcije i stvaranje kompleksa s proteinima i polisaharidima (Palafox-Carlos i sur., 2011). Kemijska struktura polifenola važna je za odvijanje interakcija, odnosno dokazano je da je hidroksilacija pogodovala adsorpciji flavonola s tri ili manje hidroksilnih skupina, ali ne i za one s četiri ili više hidroksilnih skupina (Wang i sur., 2013).

2.4. Elektrokinetički potencijal

Elektrokinetičke pojave javljaju se paralelno s granicom dviju faza koje se jedna prema drugoj relativno gibaju pri čemu nastaje električno polje, odnosno u električnom polju koji je paralelno s granicom između faza javlja se relativno gibanje faza jedne prema drugoj.

Elektrokinetički utjecaji su potencijal strujanja, elektroforetski odnosno sedimentaciji ili Dornov potencijal zatim elektroosmoza i elektroforeza. Potencijal strujanja definira se kao razlika potencijala između krajeva uske cijevi kroz koju struji elektrolit. Strujanje tekuće faze preko površine čvrste (krute) faze s formiranjem elektrokemijskog dvosloja rezultira nastankom električnog polja paralelnog smjeru strujanja. Elektroforetski potencijal naziva se još sedimentacijski potencijal ili Dornov potencijal te se definira kao razlika potencijala koji nastaje uslijed gibanja suspendiranih čvrstih čestica kroz tekuću fazu koja miruje i rezultira nastanku električnog polja paralelnog smjeru kretanja čestica. Elektroosmoza nastaje ako se duž uske cijevi narine razlika potencijala te se pod djelovanjem električnog polja tekuća faza giba preko čvrste površine. Elektroforeza predstavlja putovanje čestica pod utjecajem električnog polja uspostavljenog duž mirujućeg tekućeg medija u koji su suspendirane čvrste čestice, rezultira nastajanjem dvosloja i mehaničke sile koja uzrokuje ovo gibanje (Jakobek Barron, 2017.; Metikoš-Huković i Martinez, 2000; Piljac, 2006).

Zeta potencijal naziva se još elektrokinetički potencijal (grč. ζ) te se definira kao potencijal na plohi smicanja. Elektrokinetički potencijal je jednak ukupnom padu napona u difuznom dijelu dvosloja. Na nastanak elektrokemijskog dvosloja između dvije vodljive faze utječe specifična adsorpcija iona iz otopine na čvrstu površinu, a višak naboja neutraliziran je difuznim slojem iona suprotnog naboja u elektrolitu. Međutim, elektrokemijski dvosloj može nastati i kao posljedica adsorpcije iona nastalih slabom elektrolitičkom disocijacijom ili zbog orijentacije dipola polarnih molekula tekućeg medija uz čvrstu površinu (**Slika 5**).



Slika 5 Prikaz električnog dvosloja (Web 3)

Na **Slici 5** je prikazan električni dvosloj (a) Helmholtz, (b) Gouy-Chapman i (c) Stern. Kod Sternovog modela nastanka elektrokemijskog dvosloja neposredno uz površinu čvrste faze

nalazi se Helmholtzov ili Sternov sloj iona koje čvrsto uz površinu drže elektrostatske privlačne sile i specifične adsorpcijske sile (Van der Waalsove sile i kemijske veze). Debljina tog sloja u kojem je razlika potencijala prema čvrstoj površini naglo linearno raste jednaka je ionskom radijusu adsorbiranih iona. Ovaj sloj se nadovezuje na Gouy-Chapmanov sloj u kojem na ione djeluju elektrostatske sile i termičko gibanje molekula koje oblikuju difuznu atmosferu s nabojem suprotnim naboju elektrodne površine. Pri relativnom gibanju tekućine uz čvrstu površinu Sternov sloj i dio Gouy-Chapmanova sloja ostaju relativno nepomični na površini te se unutar Gouy-Chapmanova sloja javlja ploha smicanja molekula koja struji u odnosu na nepomične molekule, a to je zeta potencijal. Elektrokinetičke pojave, zeta potencijal, ovise o debljini tog dvosloja koji je prikazan **Jednadžbom 1**

$$L = \left(\frac{\varepsilon \varepsilon_0 R T}{2 C_0 F^2 z^2} \right)^{1/2} \quad (1)$$

gdje su:

L – debljina dvosloja (m),

C_0 – koncentracija iona (mol m^{-3}),

F – Faradayeva konstanta (96500 C mol^{-1}),

R – opća plinska konstanta ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$),

T – termodinamička temperatura (K),

z – oksidacijski stupanj iona,

ε – dielektrična konstanta materijala između slojeva naboja i

ε_0 – dielektrična konstanta vakuuma ($8,85 \cdot 10^{-12} \text{ F m}^{-1}$).

Iz **Jednadžbe 1** se uočava da je debljina dvosloja obrnuto proporcionalna korijenu koncentracije te se jasniji utjecaj elektrokinetičkih pojava uočava kod razrijeđenih otopina.

Zeta potencijal može se definirati kao potencijal na plohi smicanja i opisuje se **Jednadžbom 2**

$$\zeta = \frac{4 \pi \sigma \chi^{-1}}{\varepsilon} \quad (2)$$

gdje je σ naboj po jedinici površine. Razmak χ^{-1} opada porastom koncentracije i valencije iona te s opadanjem udaljenosti χ^{-1} i specifičnog naboja σ opada i zeta potencijal. Što objašnjava da porastom koncentracije otopine opada zeta potencijal. Ako zeta potencijal iznosi nula tada je

došlo do nestanka Gouy-Chapmanova sloja. Ovaj sloj može ponovo nastati ako su u otopini prisutni ioni koji se specifično adsorbiraju na čvrstoj površini i porastom koncentracije elektrolita javlja se zeta potencijal suprotnog predznaka (Jakobek Barron, 2017.; Metikoš Huković i Martinez, 2000; Piljac, 2006).

Raspon vrijednosti zeta potencijala za neki prehrambeni sustav je od -200 do 200 mV. Općenito prihvaćen uvjet za raspodjelu stabilnih odnosno nestabilnih sustava prikazan je u **Tablici 1** (Cano-Sarmiento i sur., 2018.).

Tablica 1 Vrijednosti zeta potencijala za stabilnost sustava (Maha i sur., 2016)

Zeta potencijal (mV)	Stabilnost sustava
0 do ± 5	Brza koagulacija ili flokulacija
± 10 do ± 30	Početna nestabilnost
± 30 do ± 40	Srednja stabilnost
± 40 do ± 60	Dobra stabilnost
više od ± 61	Odlična stabilnost

Ove vrijednosti zeta potencijala daju informacije o stabilnosti sustava odnosno zeta potencijal se može primijeniti na praćenje naboja površine, kao pokazatelj interakcije između otopljenih tvari sadržanih u vodenoj otopini i čvrste površine (Luxbacher i sur., 2016.).

2.5. Spektroskopija

Spektroskopske metode su instrumentalne tehnike koje su korištene za kvalitativne i kvantitativne analize hrane. Takve metode su jednostavne, brze i vrlo precizne. Spektroskopija je metoda kojom možemo karakterizirati tvar pomoću valnih duljina, pri kojima se spektar boja apsorbira kada svjetlost prolazi kroz otopinu tvari. Spektroskopske metode dijele se na apsorpcijsku spektroskopiju (infracrvena (IR) i ultraljubičasta i vidljiva (UV/Vis)), atomska spektroskopija, masena spektroskopija (MS), elektron spinska rezonancija i nuklearna magnetska rezonancija (NMR) (Munjanja i sur., 2015).

UV/Vis spektrofotometrija je tehnika koja se bavi apsorpcijom ultraljubičastog (100-380 nm) ili vidljivog (380-800 nm) zračenja kemijskim vrstama u otopini ili u plinskoj fazi (Skoog i sur., 1999; Jakobek Barron, 2017).

Atom može apsorbirati i ponovno emitirati samo definirane količine energije i nakon apsorpcije kvantne energije atom se transformira u određeno, energetske obogaćeno ili pobuđeno stanje. Po povratku u stanje niže energije, atom obično oslobađa apsorbiranu energiju u obliku zračenja. Ako se atomi pobude toplinski ili električno tada se apsorbirana energija oslobađa kao emisijski spektar. Ako se atomi pobude svjetlosnom energijom, atomi apsorbiraju samo točno određene količine energije, odnosno svjetlost određene frekvencije i može se promatrati apsorpcijski spektar (Skoog i sur., 1999).

Apsorpcijski spektar je graf koji prikazuje kako apsorbancija varira s valnom duljinom. Dio molekule odgovoran za apsorpciju svjetlosti se naziva kromofora. Bilo koja tvar koja apsorbira svjetlost pojavljuje se u boji kad se bijela svjetlost prenosi kroz nju ili odbija od nje. Bijelo svjetlo sadrži sve boje u vidljivom spektru. Tvar apsorbira određene valne duljine bijele svjetlosti, a naše oči detektiraju valne duljine koje se ne apsorbiraju. Promatrana boja naziva se komplementom apsorbirane boje (Harris, 2007; Skoog i sur., 1999).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak rada

- odrediti zeta-potencijal: a) otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline,

b) otopine β -glukana,

c) modela otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana

kroz različiti koncentracijski raspon i

- odrediti najstabilnije ponašanje modela otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana pri različitim pH vrijednostima.

3.2. Materijali i metode

3.2.1. Kemikalije

4-hidroksibenzojeva kiselina, β -glukan, karbonatne i fosfatne soli, KCl, HCl, destilirana voda.

3.2.2. Priprema otopine

Pripremila se otopina β -glukana, koncentracije 190 mgL^{-1} , u ultračistoj vodi. Koncentracija otopine β -glukana koja je upotrebljena za ispitivanje u ovom radu bila je 5 mg L^{-1} .

Otopina 4-hidroksibenzojeve kiseline, koncentracije 1400 mgL^{-1} , pripremljena je u metanolu, HPLC čistoće. Koncentracije 4-hidroksibenzojeve kiseline bile su 25, 50, 75, 100 i 150 mgL^{-1} i pripremale su se u određenoj otopini pufera. Puferi koji su se koristili bili su:

- $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ karbonatni-bikarbonatni pufer pH vrijednosti 10,
- $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl-KCl pufer pH vrijednosti 1,5 i
- $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ fosfatni puferi pH vrijednosti 5,5 i 7,5.

3.2.3. UV-Vis spektar

Za mjerenje UV-Vis spektra koristio se uređaj UV-1280 spektrofotometar tvrke Shimadzu koji je prikazan na **Slici 6**. Mjerali su se UV-Vis spektri modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mg L^{-1}) i β -glukana (5 mg L^{-1}) u rasponu valnih duljina od 270 nm do 700 nm. Mjerenja UV-Vis spektra modela provedena su pri pH vrijednostima od 1,5; 5,5; 7,5 i 10, nakon 1h, 2h, 5h i 16h.



Slika 6 UV spektrofotometar (Shimadzu)

3.2.4. Opis mjerenja ζ potencijala

Mjerenje zeta potencijala provedeno je na uređaju Zetasizer 2000 koji je prikazan na **Slici 7**. Mjerenja su provedena na sobnoj temperaturi, 25 °C.

Za sva provedena mjerenja na uređaju koristio se volumen od 10 mL uzorka te je svako mjerenje provedeno tri puta iz čega se uzimala srednja vrijednost dobivenoga zeta potencijala.

Vrijednosti zeta potencijala dobivene su pomoću Helmholtz-Smoluchowski relacije prikazane **Jednadžbom 3**:

$$\zeta = \frac{\kappa \eta}{\varepsilon_0 \varepsilon} \frac{\Delta E}{\Delta P} \quad (3)$$

gdje su ΔE potencijal strujanja; ΔP razlika u hidrodinamičkom tlaku; η viskoznost otopine; ε , ε_0 , κ dielektrična konstanta otopine, propusnost vakuumu i vodljivost otopine (Susanto i sur., 2009).

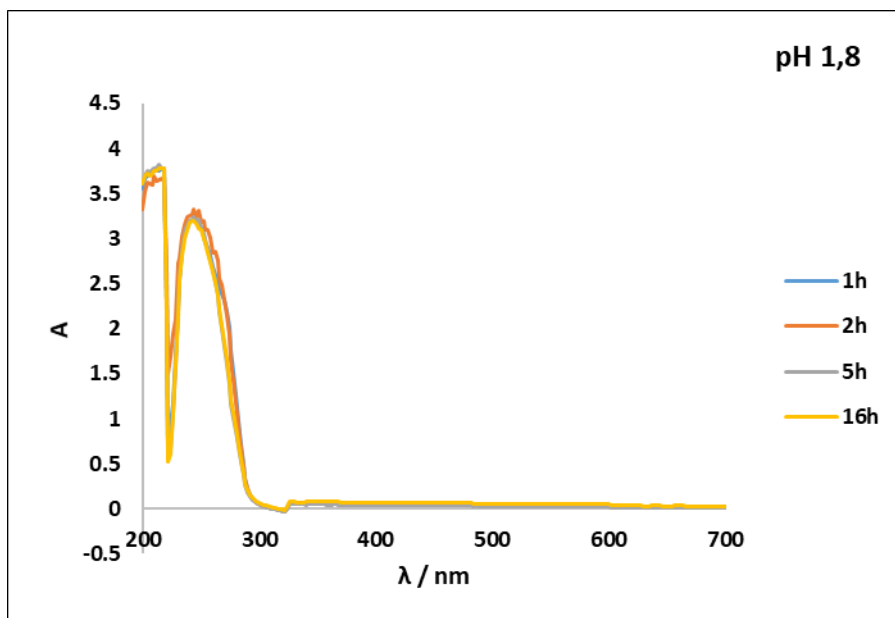


Slika 7 Uređaj Zetasizer 2000

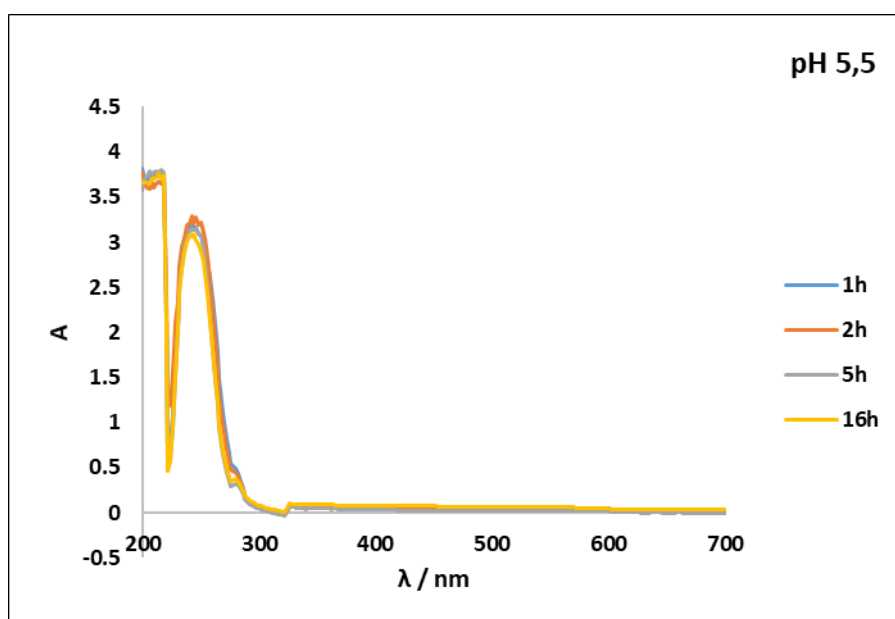
4. REZULTATI

4.1. UV-Vis spektar modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana

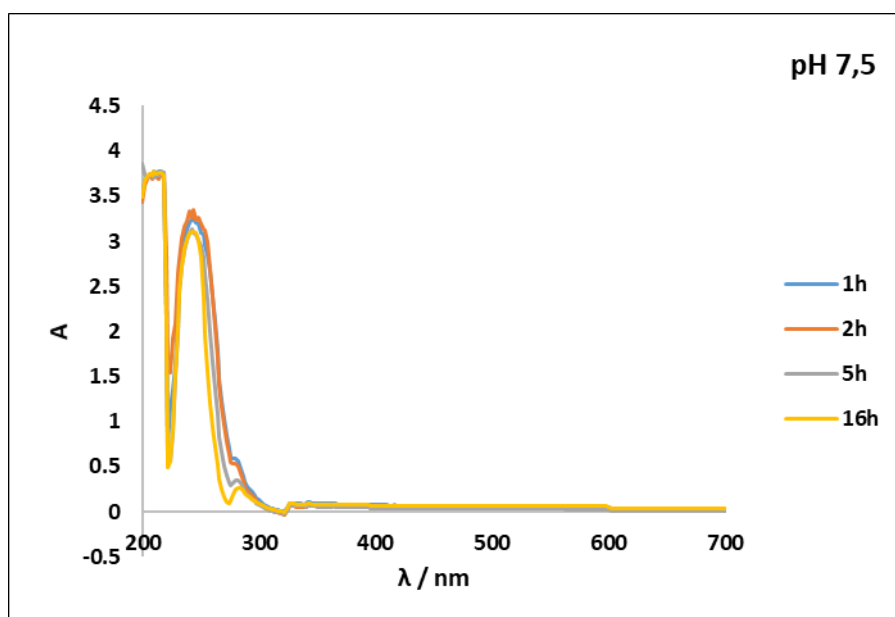
Provedeno je mjerenje UV-Vis spektra modela pri pH vrijednostima od 1,8, 5,5, 7,5 i 10, kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}). Na **Slikama od 8 do 11** prikazani su dobiveni apsorpcijski spektri.



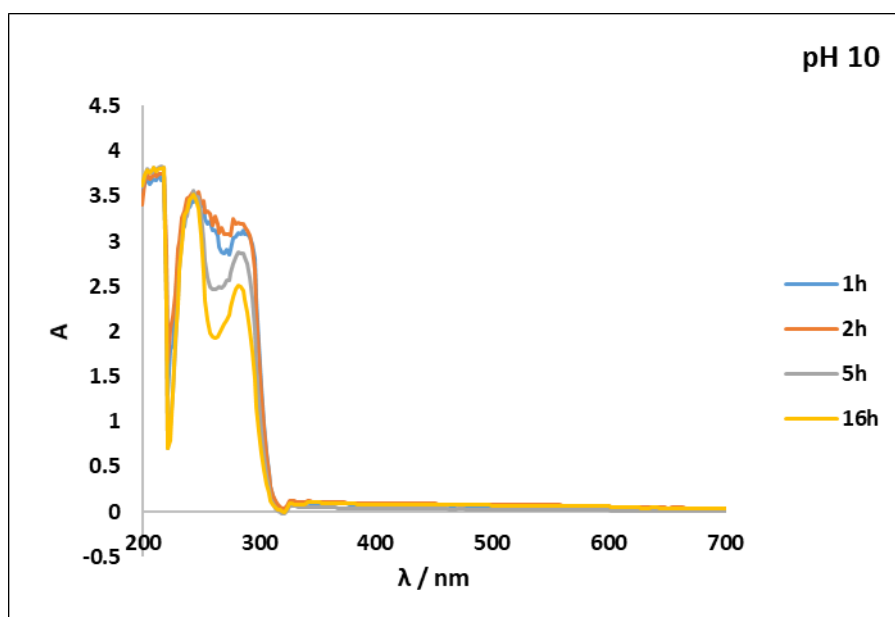
Slika 8 Apsorpcijski spektar modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) u vremenu od 1h, 2h, 5h i 16h u pH vrijednosti 1,8



Slika 9 Apsorpcijski spektar modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) u vremenu od 1h, 2h, 5h i 16h u pH vrijednosti 5,5



Slika 10 Apsorpcijski spektar modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL⁻¹) i β-glukana (5 mgL⁻¹) u vremenu od 1h, 2h, 5h i 16h u pH vrijednosti 7,5



Slika 11 Apsorpcijski spektar modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL⁻¹) i β-glukana (5 mgL⁻¹) u vremenu od 1h, 2h, 5h i 16h u pH vrijednosti 10

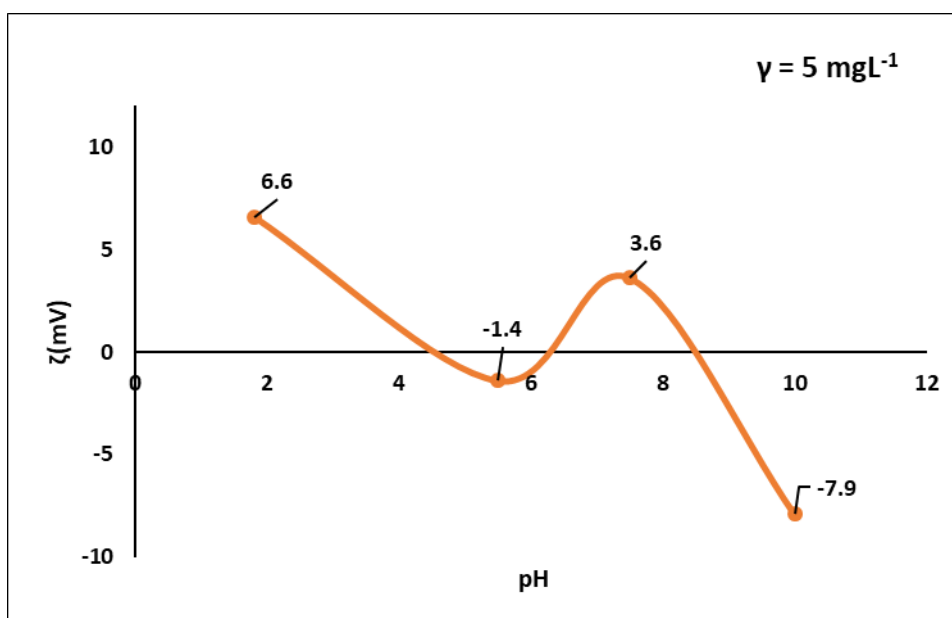
4.2. Zeta potencijal otopine β-glukana, otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline i modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β-glukana

4.2.1. Zeta potencijal otopine β-glukana

Provedeno je mjerenje zeta potencijala otopine β -glukana koncentracije 5 mgL^{-1} pri pH vrijednosti od 1,8, 5,5, 7,5 i 10. Dobivene vrijednosti prikazane su u **Tablici 2**, a grafički prikaz vidljiv je na **Slici 12**.

Tablica 2 Vrijednosti zeta potencijala β -glukana u koncentraciji 5 mgL^{-1} pri pH vrijednosti od 1,8; 5,5; 7,5 i 10

pH	$\zeta \text{ (mV)}$
1,8	6,6
5,5	-1,4
7,5	3,6
10	-7,9



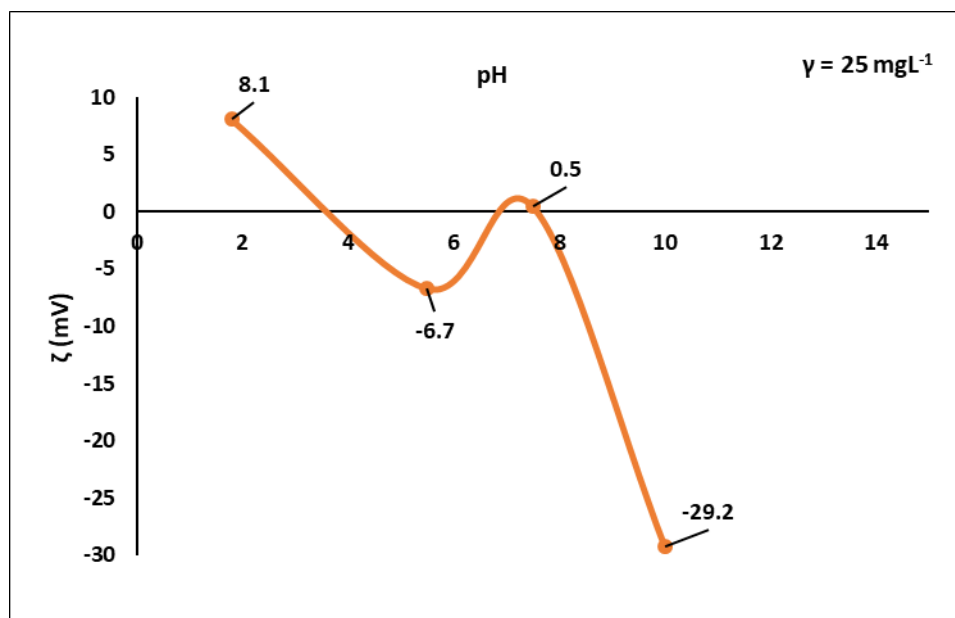
Slika 12 Ovisnost zeta potencijala otopine β -glukana (5 mgL^{-1}) o pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5, 10

4.2.2. Zeta potencijal otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline

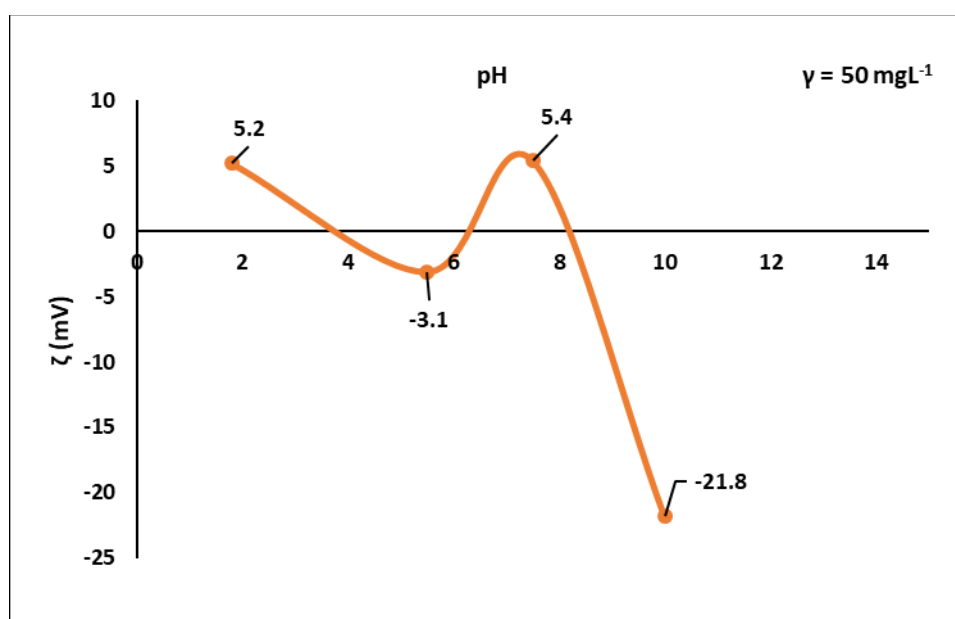
Provedeno je mjerenje zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentracijama 25, 50, 75, 100 i 150 mgL^{-1} pri pH vrijednosti od 1,8, 5,5, 7,5, 10. Dobivene vrijednosti prikazane su u **Tablici 3**, a grafički prikaz vidljiv je na **Slikama od 13 do 18**.

Tablica 3 Vrijednosti zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentracijama 25, 50, 75, 100 i 150 mgL^{-1} pri pH vrijednosti od 1,8, 5,5, 7,5, 10

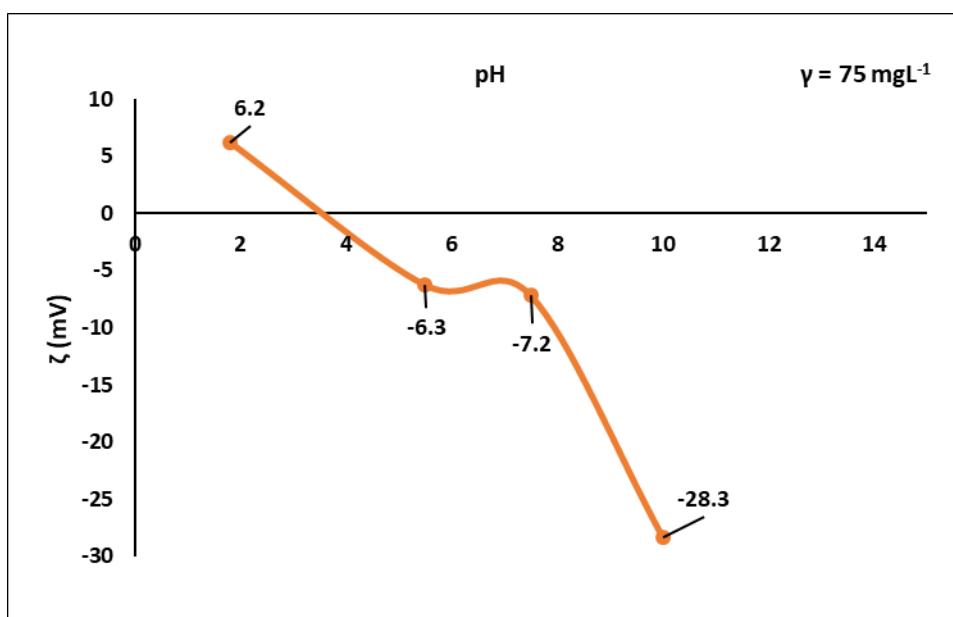
	$\gamma = 25 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 50 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 75 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 100 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 150 \text{ mgL}^{-1}$
pH	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$
1,8	8,1	5,2	6,2	0,2	2,1
5,5	-6,7	-3,1	-6,3	-5,2	-4,8
7,5	0,5	5,4	-7,2	-11,8	-7,6
10	-29,2	-21,8	-28,3	-21,8	-20,9



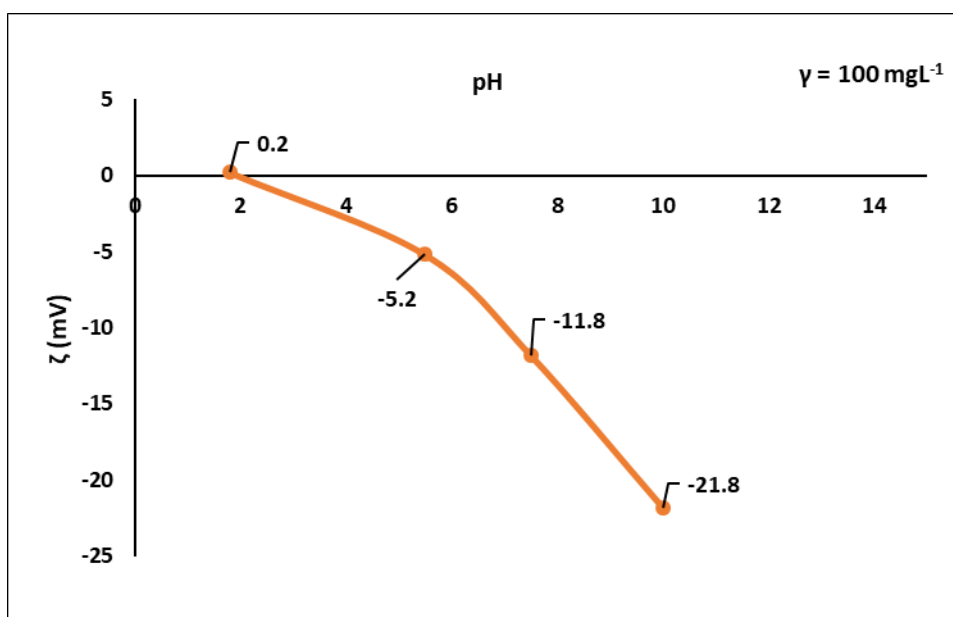
Slika 13 Ovisnost zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentraciji 25 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



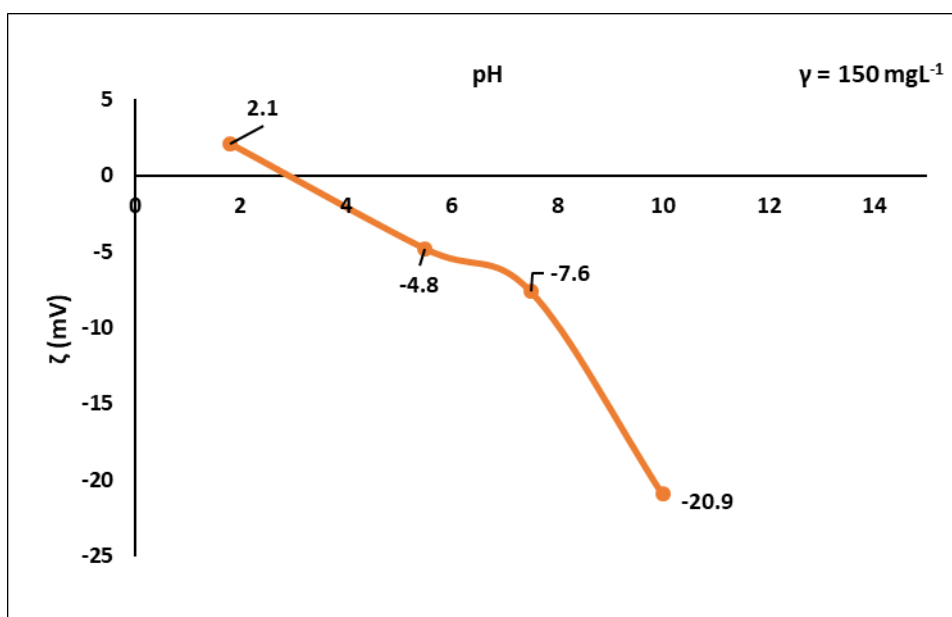
Slika 14 Ovisnost zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentraciji 50 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



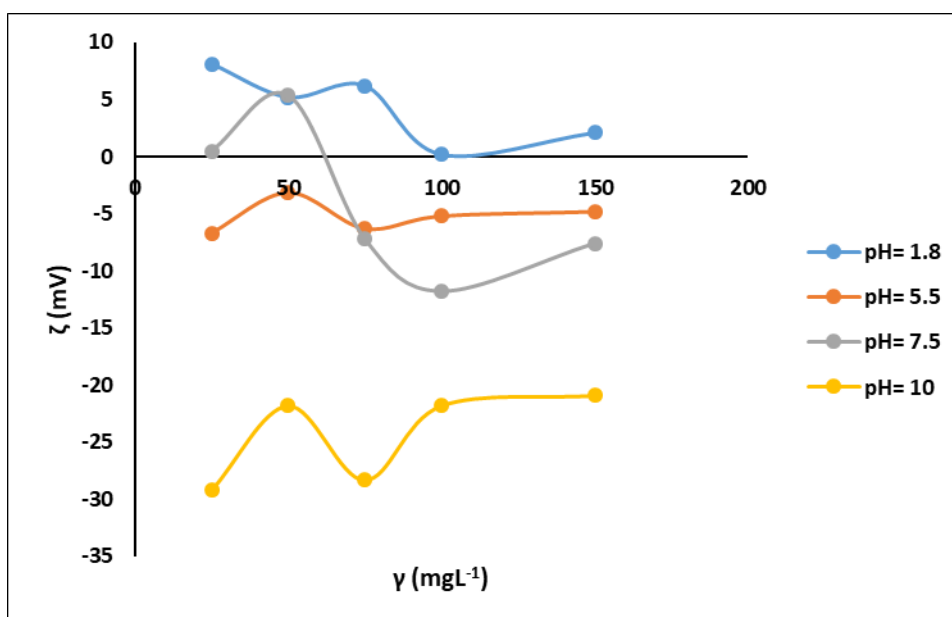
Slika 15 Ovisnost zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentraciji 75 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



Slika 16 Ovisnost zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentraciji 100 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



Slika 17 Ovisnost zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline u koncentraciji 150 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



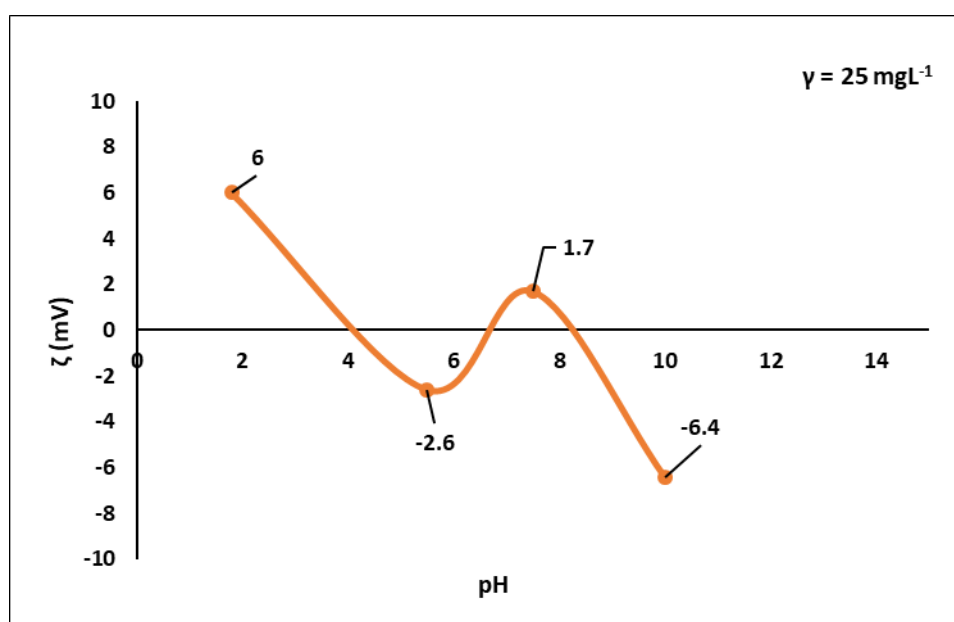
Slika 18 Ovisnost zeta potencijala otopine 4-hidroksibenzojeve kiseline pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10 u koncentracijama 25, 50, 75, 100 i 150 mgL^{-1}

4.2.3. Zeta potencijal modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana

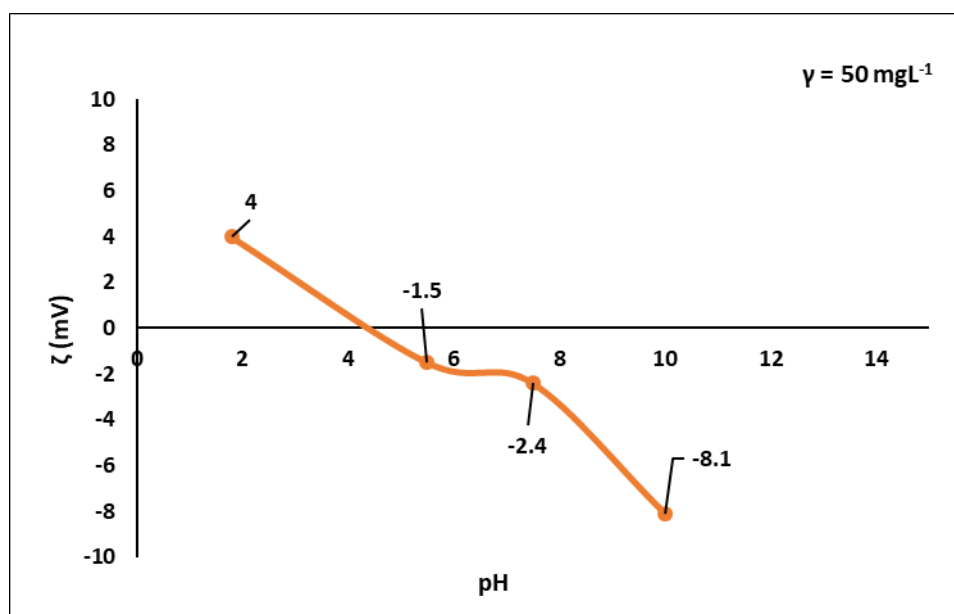
Provedeno je mjerenje zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentracijama 25, 50, 75, 100 i 150 mgL^{-1} pri pH vrijednosti od 1,8, 5,5, 7,5, 10. Dobivene vrijednosti prikazane su u **Tablici 4**, a grafički prikaz vidljiv je na **Slikama od 19 do 24**.

Tablica 4 Vrijednosti zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentracijama 25, 50, 75, 100 i 150 mgL^{-1} pri pH vrijednostima od 1,8, 5,5, 7,5, 10

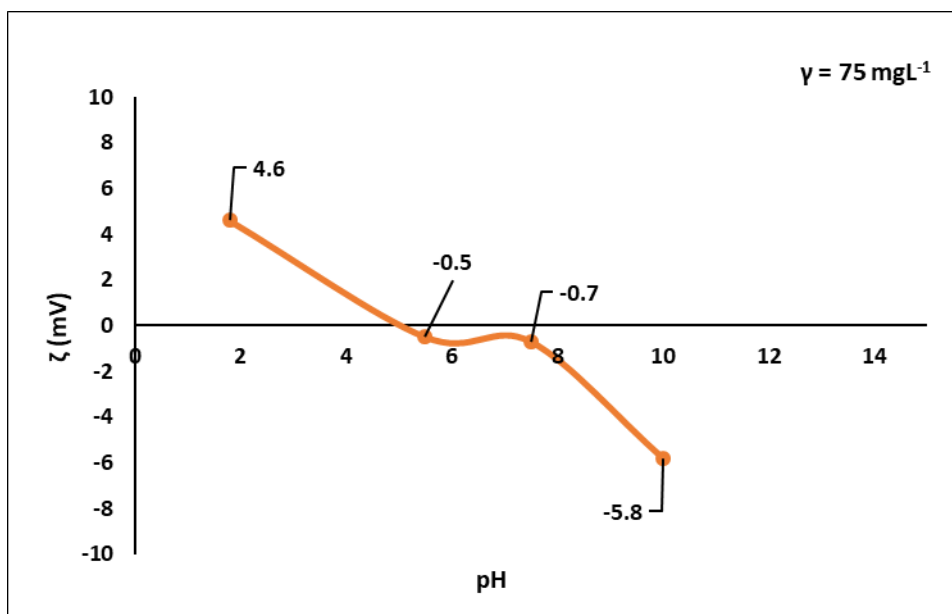
	$\gamma = 25 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 50 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 75 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 100 \text{ mgL}^{-1}$	$\gamma = 150 \text{ mgL}^{-1}$
pH	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$	$\zeta \text{ (mV)}$
1,8	6	4	4,6	3,7	2,4
5,5	-2,6	-1,5	-0,5	-5,2	0,8
7,5	1,7	-2,4	-0,7	-5,5	-2,3
10	-6,4	-8,1	-5,8	-8,9	-4,8



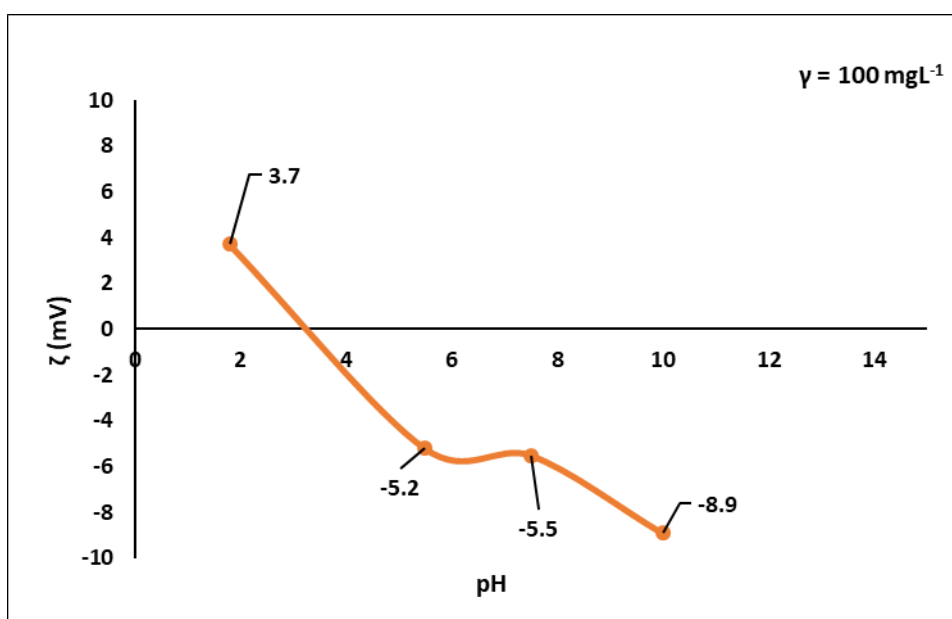
Slika 19 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentraciji 25 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



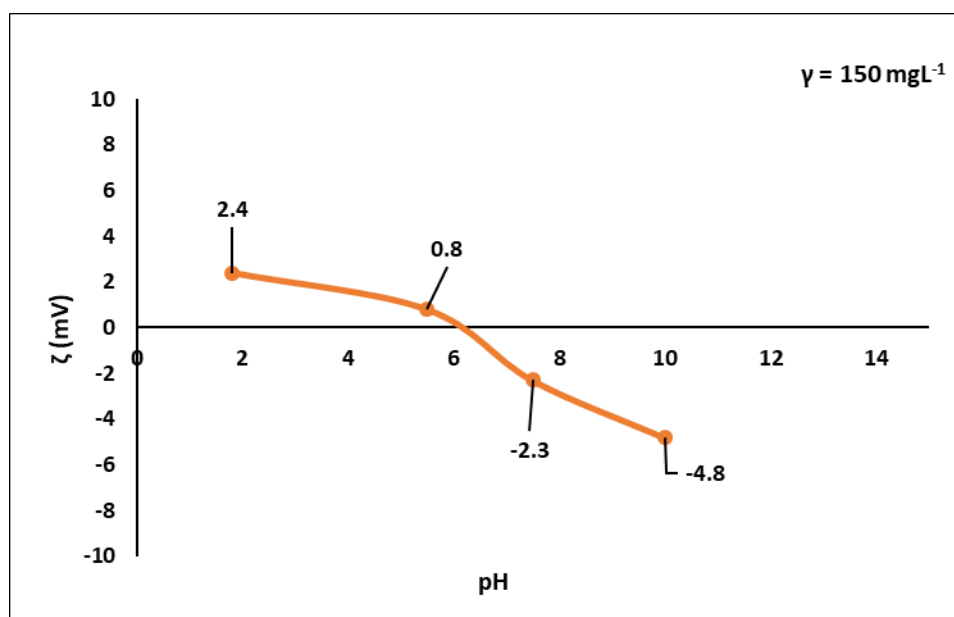
Slika 20 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentraciji 50 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



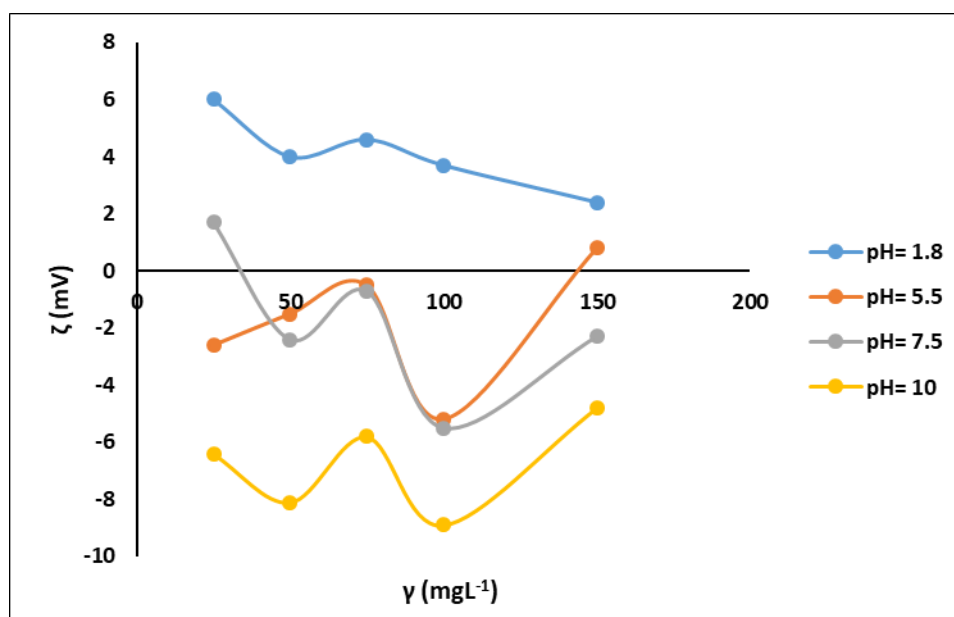
Slika 21 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentraciji 75 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



Slika 22 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentraciji 100 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



Slika 23 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentraciji 150 mgL^{-1} pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10



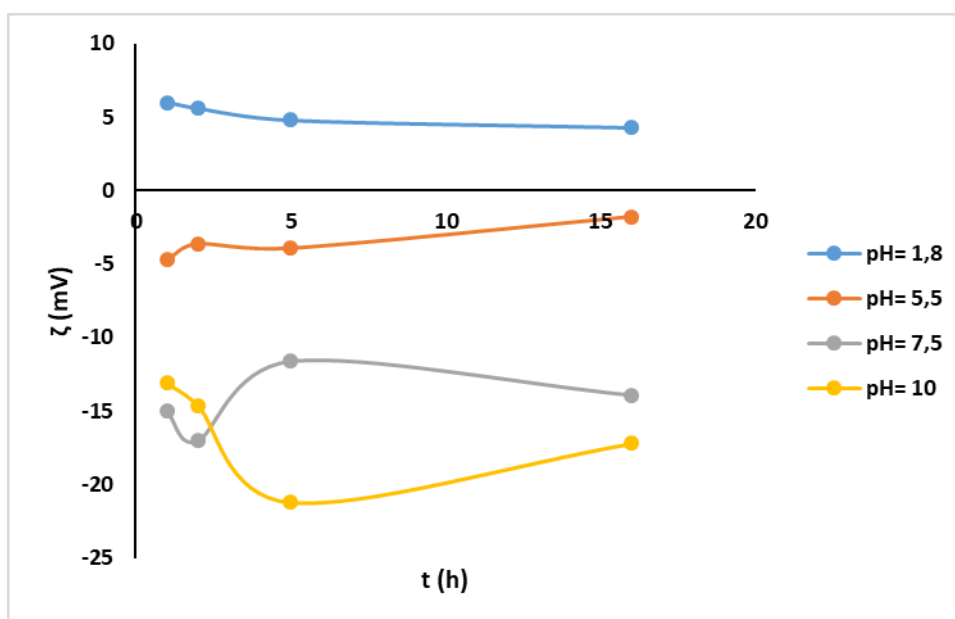
Slika 24 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10 u koncentracijama 25, 50, 75, 100 i 150 mg L^{-1}

4.2.4. Zeta potencijal modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana kroz različito vrijeme

Provedeno je mjerenje zeta potencijala modela pri pH vrijednostima od 1,8, 5,5, 7,5 i 10, kroz vrijeme stajanja modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) nakon 1h, 2h, 5h, 16h. Dobivene vrijednosti prikazane su u **Tablici 5**, a grafički prikaz vidljiv je na **Slici 25**.

Tablica 5 Vrijednosti zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) pri pH vrijednosti od 1,8, 5,5, 7,5, 10 kroz vrijeme stajanja modela nakon 1h, 2h, 5h i 16h.

	1h	2h	5h	16h
pH	ζ (mV)	ζ (mV)	ζ (mV)	ζ (mV)
1,8	6	5,6	4,8	4,3
5,5	-4,7	-3,6	-3,9	-1,8
7,5	-15	-17	-11,6	-13,9
10	-13,1	-14,6	-21,2	-17,2



Slika 25 Ovisnost zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana pri pH vrijednostima 1,8, 5,5, 7,5 i 10 nakon 1h, 2h, 5h, 16h

5. RASPRAVA

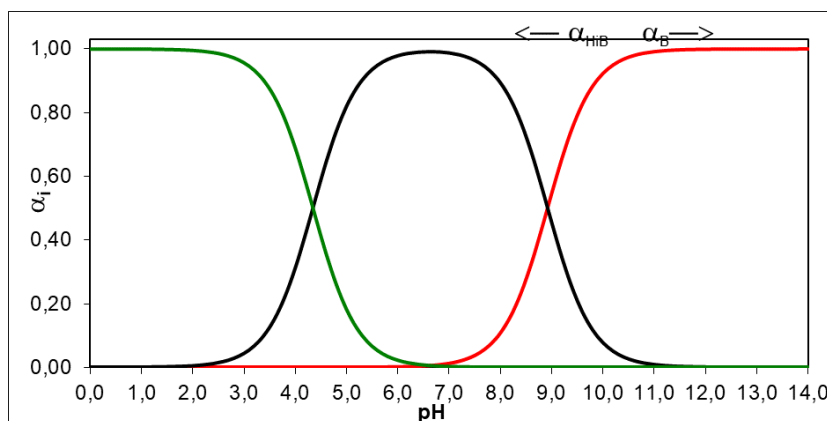
U ovom diplomskom radu provedeno je istraživanje apsorpcijskih spektara (UV-Vis spektra) modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) pri pH vrijednostima 1,8; 5,5; 7,5 i 10 kroz vremenski period od 1h, 2h, 5h i 16h. Apсорpcijski spektri modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) prikazani su na **Slikama 8-11**. Na **Slikama 8-11** mogu se uočiti dva dva apsorpcijska maksimuma, jedan na oko 230 nm koji prema literaturnim referencama odgovara unutarmolekulskom prijenosu elektrona i pri valnoj duljini oko 270 nm koji odgovara benzenskom prstenu (Kamath, 1975). Također, kod *para* oblika hidroksibenzojeve kiseline uočava se samo jedan jasno izraženi apsorpcijski maksimum (**Slike 8-10**) pri valnoj duljini od oko 270 nm. Na **Slici 11** uočavaju se dva apsorpcijska maksimuma pri valnim duljina od oko 230 nm i oko 280 nm što odgovara istraživanju od Kamath (1975.).

Nadalje, iz dobivenih apsorpcijskih spektara prikazanih na **Slikama 8-11** može se uočiti da promjenom pH vrijednosti mijenja se njihov izgled te se može zaključiti da na apsorpcijske spektre modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) utječe promjena pH vrijednosti, vremenski period i kemijska struktura ispitanog modela.

Nadalje, ispitan je utjecaj pH vrijednosti pufera na ponašanje zeta potencijala otopine β -glukana (5 mg L^{-1}), a prikazan je na **Slici 12** i u **Tablici 2**. Ispitan je utjecaj pH vrijednosti pufera 1,8; 5,5; 7,5 i 10 na otopinu β -glukana te se iz **Slike 12** i **Tablice 2** može uočiti da pH vrijednost pufera utječe na kemijsku strukturu β -glukana. Vrijednosti zeta potencijala kretale su se od oko $\pm 7 \text{ mV}$ te se može uočiti da u kiselom mediju molekula β -glukana je pozitivna dok u lužnatom prelazi u anionski oblik, što je u skladu s teorijskim osnova o zeta potencijalu (Salopek i sur., 1992).

Zatim se ispitaio utjecaj koncentracije 4-hidroksibenzojeve kiseline (25, 50, 75, 100 i 150 mg L^{-1}) i pH vrijednosti pufera (1,8; 5,5; 7,5 i 10) na ponašanje zeta potencijala (**Slike 13-18**, **Tablica 3**). Iz **Slike 13-17** uočava se da je prisutan utjecaj promjene pH vrijednosti pufera na kemijsku strukturu 4-hidroksibenzojeve kiseline i ponašanje zeta potencijala. Iz **Slike 18** može se zaključiti da najstabilniji oblik molekule 4-hidroksibenzojeve kiseline je u vrijednosti pufera pH

10 jer je iznos zeta potencijala oko -30 mV te je prisutan anionski oblik molekule što potvrđuje i distribucijski dijagram (**Slika 26**). Distribucijski dijagram dobiven na osnovi pK_a vrijednosti za 4-hidroksibenzojevu kiselinu (Manuja i sur., 2013; Völgyi i sur., 2007) prikazuje prisustvo neutralne molekule u području pH 1-4,5 i pri pH 4,5 do 14 anionskog oblika kiseline.



Slika 26 Distribucijski dijagram 4-hidroksibenzojeve kiseline

Nadalje, ispitan je utjecaj promjene koncentracije modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana pri pH vrijednosti od 1,8, 5,5, 7,5 i 10 na ponašanje zeta potencijala (**Tablica 4, Slike 19-24**). Model 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u kiselom mediju je pozitivan dok u lužnatom mediju negativan te postiže izoelektričnu točku pri pH 5,5 i 7,5 jer je izoelektrična točka definirana kao pH otopine ili molekule pri kojem je neto naboj molekule ili čestice jednak nuli (Web 4).

Najstabilniji model 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana pokazao se u pH 10 iako prema raspodjeli zeta potencijala vrijednosti zeta potencijala od -4,8 do -8,9 koje model postiže u pH 10 odgovaraju početnoj nestabilnosti jer je ovo ispitivanje provedeno u nultom vremenu. S ciljem utvrđivanja najstabilnijeg oblika modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana ispitan je utjecaj vremenskog perioda na vrijednosti zeta potencijala. Za ovo istraživanje pripremljen je model 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u koncentraciji 25 mg L^{-1} 4-hidroksibenzojeve kiseline jer prema teorijskim osnovama (Salopek i sur., 1992; Metikoš-Huković i Martinez, 2000) zeta potencijal je bolje uočljiv pri nižim koncentracijama te se iz tog razloga ispitao model 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana (5 mgL^{-1}) većeg razrjeđenja. Vrijednosti zeta potencijala za praćenje modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) kroz vremenski period od 1, 2, 5 i 16 sati pri pH vrijednostima 1,8-, 5,5; 7,5 i

10 prikazan je u **Tablici 5** i na **Slici 25** te se može uočiti da je najstabilniji oblik ispitanog modela pri pH 10, a iz vrijednosti zeta potencijala (oko -20) prisutan je anionski oblik molekule. Također se može uočiti da je model 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) tijekom cijelog ispitanog vremenskog perioda pri svim ispitanim pH vrijednostima stabilan jer je prisutna mala promjena vrijednosti zeta potencijala ($\pm 5 \text{ mV}$).

Prema rezultatima istraživanja zeta potencijala modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) može se zaključiti da kemijska struktura, koncentracija i pH vrijednost utječu na zeta potencijal i oblik modela. Istraživanja zeta potencijala na vlaknima u vodenom mediju pokazala su kontradiktorne rezultate, međutim sva istraživanja su potvrdila da je prisutna ionsko-molekulska interakcija (Jacobasch i sur., 1985).

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi istraživanja ovog diplomskog rada izvedeni su sljedeći zaključci:

- Istraživanje apsorpcijskih spektara (UV-Vis spektara) modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) pokazalo je da se promjenom pH vrijednosti mijenja njihov izgled te da na apsorpcijske spektre modela 4-hidroksibenzojeve kiseline (25 mgL^{-1}) i β -glukana (5 mgL^{-1}) utječe promjena pH vrijednosti, vremenski period i kemijska struktura ispitanog modela.
- Ispitan je utjecaj pH vrijednosti pufera na ponašanje zeta potencijala otopine β -glukana (5 mgL^{-1}) i može se uočiti da pH vrijednost pufera utječe na kemijsku strukturu β -glukana. Molekula β -glukana u kiselom mediju se pokazala pozitivna dok u lužnatom prelazi u anionski oblik.
- Ispitan je utjecaj koncentracije 4-hidroksibenzojeve kiseline i pH vrijednosti pufera na ponašanje zeta potencijala i može se zaključiti da je najstabilniji oblik molekule 4-hidroksibenzojeve kiseline u vrijednosti pufera pH 10 (ζ potencijal oko -30 mV) te je prisutan anionski oblik molekule. Odnosno, promjene pH vrijednosti pufera imaju utjecaj na kemijsku strukturu 4-hidroksibenzojeve kiseline i ponašanje zeta potencijala.
- Ispitan je utjecaj promjene koncentracije modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana na ponašanje zeta potencijala. Pokazalo se da je model 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana u kiselom mediju pozitivan dok je u lužnatom mediju negativan te da je postignuta izoeletrična točka pri pH 5,5 i 7,5 te je najstabilniji model 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana dobiven u vrijednosti pufera pH 10.
- Ispitan je utjecaj vremenskog perioda na vrijednosti zeta potencijala s ciljem utvrđivanja najstabilnijeg oblika modela 4-hidroksibenzojeve kiseline i β -glukana te je najstabilniji oblik ispitanog modela postignut u vrijednosti pufera pH 10 i na zeta potencijal i oblik modela utječu kemijska struktura, koncentracija i pH vrijednost.
- najstabilniji oblik ispitanog modela i zasebnih otopina postignut je u pH vrijednosti pufera pH 10 te na zeta potencijal utječu i kemijska struktura, koncentracija kao i pH vrijednost pufera.

7. LITERATURA

- Arulprakasajothi Maha: Performance study of conical strip inserts in tube heat exchanger using water based titanium oxide nanofluid. *Thermal Science* 22(00) 250-250, 2016
- Cano-Sarmiento C, Téllez-Medina I, Viveros-Contreras R, Cornejo-Mazón M, Figueroa-Hernández CY, García-Armenta E, Alamilla-Beltrán L, García HS, Gutiérrez-López GF: Zeta Potential of Food Matrices. *Food Engineering Reviews* 10:113–138, 2018.
- Daniel C. Hariss: Quantitative chemical analysis. Seventh edition. Absorption of light 18-2:382, 2007.
- Jacobasch HJ, Bauböck G, Schurz J: Problems and results of zeta-potential measurements on fibers. *Colloid & Polymer Science* 263: 3-24, 1985.
- Jakobek Barron L: Nastavni materijal iz kolegija Instrumentalne metode II, Osijek, 2017.
- Jakobek L, Matić P: Non-covalent dietary fiber - Polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology* 83: 235-247, 2019
- Kamath BV, Mehta JD, Bafna SI: Ultraviolet Absorption Spectra: Some Substituted Benzoic Acids. *J. Appl. Chem. Biotechnol.* 25:743-751, 1975.
- Kitade Y, Hashimoto R, Suda M, Hiraga K, Inuia M: Applied and Environmental Microbiology. Production of 4-Hydroxybenzoic Acid by an Aerobic GrowthArrested Bioprocess Using Metabolically Engineered *Corynebacterium glutamicum* 84:2, 2018.
- Luxbacher T, Pušić T, Bukšek H, Petrinić I: U *8th International textile, clothing & design conference*, str. (340-345), Magic World of Textiles, Dubrovnik, 2016.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L.: Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79, 727-747, 2004.
- Manuja R, Sadchdeva S, Jain A, Chaudhary J: A Comprehensive Review on Biological Activities of p-Hydroxy Benzoic Acid and Its Derivates. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 22, 109-115, 2013.
- Mason R: *What is Beta Glucan?*. Safe Goods, Sheffield, 2001.

- Metikoš Huković M, Martinez S: *Praktikum iz elektrokemije*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2000.
- Mitmesser S, Combs M Prebiotics: Inulin and Other Oligosaccharides. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology. Implication for Human Health, Prebiotics, and Dysbiosis* 23: 201 -208, 2017
- Munjanja B.: Handbook of Food Analysis, UV-Visible Absorption, Fluorescence and Chemiluminescence Spectroscopy 31:572-583, 2015.
- Palafox-Carlos H, Ayala-Zavala JF, González-Aguilar G.A: The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 76:R6-R15, 2011.
- Piljac I: *Elektroforeza*. Media Print, Zagreb, 2006.
- Quirós-Sauceda AE, Palafox-Carlos H, Sáyago-Ayerdi SG, Ayala-Zavala JF, Bello-Perez LA, Álvarez-Parrilla E, de la Rosa LA, González-Córdova AF, González-Aguilar GA: Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food Function*, 5: 1063 – 1072, 2014.
- Salopek B, Krasić D, Filipović S: Measurment and application of zeta-potential. *U Rudarsko-geološko-naftni zbornik*, str. 147-151. University of Zagreb, 1992.
- Shahriar Khadem, Robin J.Marles: Monocyclic Phenolic Acids; Hydroxy – and Polyhydroxybenzoic Acids: Occurrence and Recent Bioactivity Studies. *Molecules* 15(11) 7985-8005, 2010.
- Skoog D.A, West D.M, Holler F.J : *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1999.
- Susanto H, Feng Y, Ulbricht M: Fouling behavior of aqueous solutions of polyphenolic compounds during ultrafiltration. *Journal of Food Engineering*. *Journal of Food Engineering* 91: 333-340, 2009.
- Völgyi G, Ruiz R, Box K, Comer J, Bosch E, Takacs-Novak K: Potentiometric and spectrophotometric pK_a determination of water-insoluble compounds: Validation study in a new cosolvent system. *Analytica Chimica Acta*, 583, 418-428, 2007.

Wang Y, Liu J, Chen F, Zhao G: Effects of Molecular Structure of Polyphenols on Their Noncovalent Interactions with Oat β -glucan. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61:4533-4538, 2013.

Web 1 : http://www.molbase.com/en/desc_99-96-7-moldata-3948.html#tabs (18.08.2019.)

Web 2: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/p-hydroxybenzoic-acid-market> (18.08.2019.)

Web 3: https://warwick.ac.uk/fac/cross_fac/sciencecity/programmes/internal/themes/am2/bookin_g/particlesize/mrk654-01_an_introduction_to_zeta_potential_v3.pdf

Web 4: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=izoelektri%C4%8Dna+to%C4%8Dka>